



ESTUDIO PROTEOMICO DE LA FORMACIÓN DE MADERA EN PINO MARÍTIMO, *pinus pinaster*

**MARCELO ARNOLDO GARCES CEA
DOCTOR EN CIENCIAS,
MENCIÓN INGENIERÍA GENÉTICA VEGETAL**

RESUMEN

Las propiedades de la madera en pino marítimo varían tanto a nivel químico, anatómico y mecánico. Seis tipos de madera se pueden encontrar al seno de un mismo árbol: madera temprana, madera tardía, madera de copa, madera de base, madera de compresión y madera opuesta. En este trabajo de tesis, hemos testado la hipótesis según la cual la variabilidad fenotípica de las propiedades de la madera, están liadas a la expresión diferencial de proteínas a través de la xilogénesis. Por una aproximación proteómica, basada en la electroforesis bidimensional y la espectrometría de masas en tándem (LC ESI MS/MS), hemos identificado 165 proteínas diferencialmente exprimidas a lo largo de un gradiente de edad cambial (madera juvenil y madera madura) y 93 proteínas diferencialmente exprimidas en el curso de una temporada de crecimiento (madera de primavera y madera de verano) en pino marítimo . Un análisis químico complementario se realizo a las muestras por pirolisis analítica. Nuestros resultados mostraron que el xilema secundario formado al inicio de la temporada así Como el formado por un cambium joven presentan una sobre expresión de proteínas que participan en la división celular. En el xilema formado a partir de un cambium maduro o al fin de la temporada hemos descubierto proteínas implicadas en la defensa celular (su rol seria evitar la muerte celular programada), y proteínas implicadas en la biosíntesis de elementos constitutivos de la pared. Este estudio contribuye a reforzar nuestros conocimientos sobre las actividades moleculares que intervienen durante la xilogénesis. Se descubren por otro lado, pistas de investigación a seguir sobre la detección de genes implicados en el

control genético de las propiedades de la madera en un objetivo de selección asistida por marcadores

RESUME

Les propriétés du bois de pin maritime varient aux niveaux chimique, anatomique et mécanique. Six types de bois peuvent être trouvés au sein d'un même arbre : bois précoce, bois tardif, bois de couronne, bois de base, bois de compression et bois opposé. Au cours de cette thèse, nous avons testé l'hypothèse selon laquelle la variabilité phénotypique des propriétés de bois, serait liée à l'expression différentielle des protéines lors de la xylogénèse. Par une approche protéomique basée sur l'électrophorèse bidimensionnelle et la spectrométrie de masse en tandem (LC ESI MS/MS), nous avons identifié 165 protéines différentiellement exprimées le long d'un gradient d'âge cambial (bois juvénile vs. bois mature) ainsi que 93 protéines différentiellement exprimées au cours de la saison de végétation (bois de printemps vs. bois d'été) chez le pin maritime. Une analyse chimique complémentaire des échantillons a été réalisée par pyrolyse analytique. Nos résultats montrent que le xylème secondaire formé en début de saison ainsi que celui qui est initié par un cambium jeune présentent une sur-expression de protéines participant à la division cellulaire. Dans le xylème issu d'un cambium âgé ou formé à la fin de l'été nous avons mis en évidence des protéines impliquées dans la défense cellulaire (dont le rôle serait de retarder la mort cellulaire programmée), ainsi que des protéines impliqués dans la biosynthèse des éléments constitutifs de la paroi. Cette étude contribue à renforcer nos connaissances sur les acteurs moléculaires intervenant lors de la xylogénèse. Elle ouvre par ailleurs des pistes de recherche sur la détection de gènes impliqués dans le contrôle génétique des propriétés du bois dans un objectif de sélection assisté par marqueurs.

Mots-clé: Protéomique, Formation du bois, Pin maritime, *Pinus pinaster*, xylème, cambium

ABSTRACT

Wood properties in maritime pine are highly variable at chemical, anatomical and mechanical levels. Six types of wood can be found in a single tree, early wood, late wood, crown wood, base wood, compression wood and opposite wood. In this thesis report, we tested the hypothesis that the observed variability at the phenotypic level, can be bound to the differential expression of proteins during the process of wood formation. We use the tools of proteomics, Bidimensional electrophoresis and LC ESI MS/MS for the discovery of 165 proteins differentially expressed in a cambial age gradient, (from base wood to crown wood), an 93 overexpressed proteins in a seasonal gradient (from early wood collected at the beginning of the growing season, to late wood, collected at summer) Complementary, chemical characterization of the samples was performed using analytical pyrolysis. Our results showed that the secondary xylem formed at the beginning of the growing season, and the xylem formed by a young cambium, present a overexpression of proteins participating in the intense cell division, characteristic of those tissues, e.g. Biogenesis of cytoskeleton and hemicelluloses, RNA transcription, synthesis, folding and modification of proteins. In the xylem formed at the base of the trunk and at the end of the growing season we have found an over-expression of proteins from cell defense (they role will be to delay programmed cell death) and cell wall formation related proteins e.g. lignin biosynthesis. This study contributes to reinforce our knowledge over the molecular actors involved in the xylogenesis process. It opens , in another hand , research guides for the detection of genes involved in the genetic control of wood properties towards an objective of marker assisted selection.

Keywords: Proteomics, Wood formation, maritime pine, *Pinus pinaster*, xylem, cambium